

Title	X線照射のグルタチオン代謝に及ぼす影響に就いて 第1報
Author(s)	北村, 裕
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 19(12), p. 2606-2610
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18517
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

X線照射のグルタチオン代謝に及ぼす影響に就いて

(第 1 報)

京都大学医学部放射線医学教室 (福田 正教授)

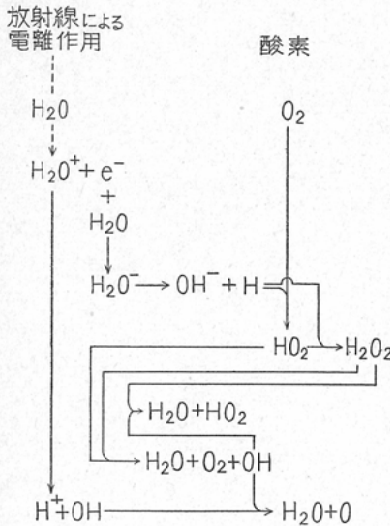
北 村 裕

(昭和34年11月30日受付)

緒 言

従来X線の一次的作用に就いては、之を純物理的に解明しようとする努力が払はれたが、他方主に米英学派によつては之を化学的に解明しようとする努力が払はれ、1944年に到り Weiss¹⁾ は水に及ぼすX線の化学変化に就いて次の様な見解を發表し一般に容認される所となつた。即ちX線は水分子から電子を叩き出して正の H_2O^+ イオンを生じ、 H_2O^+ イオンは H^+ と OH とに分解する。

第1図 化学的効果 (Scientific Americanより)



一方叩き出された電子は他の水分子と結合して H_2O^- イオンとなり、やがて分解して H と OH^- となる。これらの分解生成物は相互に反応して H_2O のみならず H_2 、 O_2 や HO_2 をも生ずる。尚

遊離の H は生細胞内で O と結合し、一連の反応を経て HO_2 や H_2O_2 となる (第1図²⁾) 水が電離して H_2 、 O_2 、 O 並びに遊離の原子団 OH 、 H_2 、 O_2 都合四種の強力な酸化剤の出来る事は重要な事実で、之等の酸化剤は細胞内で物質を酸化し正常な化学反応を妨害する。即ちX線による化学変化は線が直接に溶質に吸収されて生ずる部分もあるが、この様な直接作用よりも寧ろ水の分子がX線によつて変化を生じ、之が溶質に働き同種の化学変化を起す所謂間接作用の方が比重が遙に大きいという事が分つて来た。

斯の様に水の活性化に依つて生じた OH 、 H 基、 H_2 、 O_2 等によつて電離放射線の生物学的作用が起るといふ見地から、酸化還元系の推移によつてX線障害を考察せんとして吾々放射線科教室では福田教授指導のもとに種々の方面から検討が加えられつゝある。著者はグルタチオン (以下 G と略す) 代謝に就いて検討し、 G 代謝より主としてX線の肝臓に及ぼす影響を検索した。

而して肝臓は従来X線感受性の高い臓器とは考えられていないが³⁾⁴⁾⁵⁾、Ellinger⁶⁾ 等は肝臓の放射線感受性は比較的高いと評価している事や、広島・長崎に於ける原子爆弾症に関する観察⁷⁾、福竜丸船員に関する詳細な臨床的観察及び久保山氏剖検処見に見られた重大な肝障害⁸⁾、又近年X線治療に大線量を用うるようになった事等を考慮する時、X線は果して如何なる影響を肝臓に及ぼすものであるかに就いて、十分な知見を要すると考えられるが、先人の業績は必ずしも知見の一致を見ていない現状である。即ち Irving⁹⁾ によれば

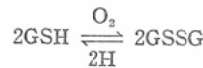
小線量にては肝臓に一時的な浮腫，充血，白血球浸潤等が現われ，大線量によつて始めて組織壊死を惹起するまでの破壊を及ぼす事を報告したが，他方 Hall 及び Whipple¹⁰⁾，Martin 及び Rogers¹¹⁾，Warren 及び Whipple¹²⁾ 等は病理学的著変を確認出来ないと報告した．又 Ludin¹³⁾ は脂肪変性と充血を，都築¹⁴⁾ は軽度の充血と変性を認めるが速に恢復して後に萎縮変性を認めたに過ぎない．然し Wetzell¹⁵⁾ は胃癌患者のX線治療中に招来された肝左葉の壊死を報告して警告した．遡るほつては肝臓障害を起して問題となつた Thorotrast に就いて Pohle 及び Ritchie¹⁶⁾ は硝子様変性，浮腫及び門脈周囲淋巴管の拡張を認め，後に萎縮と纖維症を残す事を確認した．又最近 Los Alamos で起つた原子炉事故の報告¹⁷⁾ では肝腫大，浮腫を認めるが組織学的な著変は見られないと報告している．

上述の如く肝臓の形態的变化に関しても先人の業績には相互に可成りの相違が認められ，今後の詳細な研究が待たれている現状である．福田教授指導のもとに実験を進めるに当り意義深く信ずる所以である．

而して「グ」は1921年 Hopkins¹⁸⁾ により命名せられたものであるが，この様な物質の存在はこれより30年前 De-Rey-Pailhade¹⁹⁾ によつて想像せられた所である．即ち氏は酵母又は動物細胞中

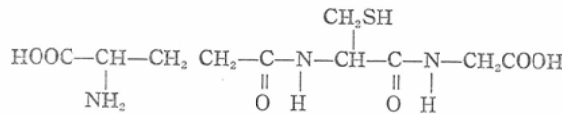
の硫黄を硫化水素に還元する物質の存在するのを発見し Philothion と名付けた．Gola²⁰⁾ は植物生理学の領域にて増殖性組織中に類似のSH含有物質を見，Buffa²¹⁾ は同様の物質を動物組織中に認め，その後 Heffter²²⁾ は Nitroprusside 反応を用いて多くの動物組織及びその抽出液中にSH含有物質を証明し，これは細胞内の酸化還元反応に関与するものと考えた．これらの業績に基づいて Hopkins¹⁸⁾ は1921年斯る物質を酵母，筋肉及び哺乳動物の肝臓より分離する事に成功し，之を Glutathione と命名してその性状及び意義を明にし，生物学上に一大寄与をなした．始めその構造は γ -Glutamyl-Cysteine と考えられたが，後に Hopkins²³⁾ 自身及び Kendall, Mckenzie, Mason²⁴⁾ 等の詳細な研究により「グ」はグルタミン酸，チステイン及びグリシンよりなる Tripeptide である事が確められ1936年に到り Harington 及び Mead²⁵⁾ は Carbobenzoxy 法を応用して始めてグの合成に成功した．現在「グ」は水に可溶性の白色の結晶として得られ酸化還元の両型は夫々次の様な構造式をもっている²⁶⁾．

両型間には次式の如き反応が行はれ細胞内酸化還元に関与している．

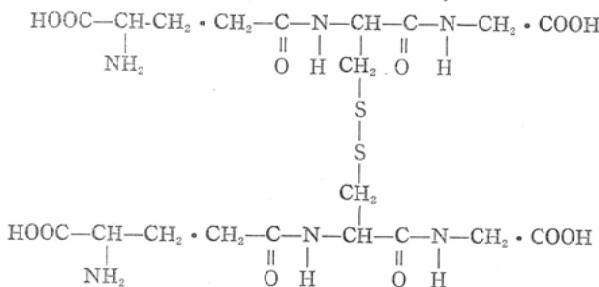


その他「グ」は蛋白融解酵素，エステラーゼ等

還元型 (SH-Glutathione)



酸化型 (S-S-Glutathione)



の賦活体として組織中の物質代謝の調節体として²⁸⁾²⁹⁾、或は解糖作用に於て補酵素様の作用によつて乳酸生成を増加し³⁰⁾、更に生体内解毒機転³¹⁾³²⁾³³⁾、免疫体産生³⁴⁾、等に対しても意義を有する等生物学的重要性は益々其の度を加えつゝある。

而して1925年 Tunicluffe³⁵⁾が Nitroprussid による「グ」の定量法を發表して以来、「グ」に就いての研究は多数を算するが、X線照射の「グ」代謝に及ぼす影響に就いての先人の業績は唯二三散見されるに過ぎない。即ち Perterson³⁶⁾は 500r 全身照射後の肝臓及び血液「グ」の消長を検し、又庄司³⁷⁾は全身照射で山口³⁸⁾は肝臓部照射で共に血液「グ」の消長を検し何れもその減少するものを認めている。然し酸化還元両型に恒り「グ」代謝に及ぼすX線の影響を系統的に検索した報告は著者の探し得た範囲には見当らず、「グ」の生物学的重要性より鑑みても著者の行わんとする本実験は甚だ興味深く且意義あるものと信ずる次第である。

第1章 グルタチオン定量法

今日行はれる「グ」の定量法は沃度法と比色法に大別される。前者は1925年 Tunicluffe³⁵⁾が三塩化醋酸で処置した組織濾液に Sodium nitroprusside を指示薬として沃度滴定法を応用したのが最初であり、その後 Perlweiz³⁹⁾ (1927年)、Kuhnaw⁴⁰⁾ (1931年)、Woodward. Fry⁴¹⁾ (1932年)、奥田・小川⁴²⁾ (1933年)、藤田・沼田⁴³⁾ (1939年)など諸種の方法があげられている。当初除蛋白剤として三塩化醋酸又はズルホサリチル酸を用いたが藤田・岩竹⁴⁴⁾はこれは血液の場合その濾液中に Fe^{III} が移動し、之が沃度加里より沃度を遊離し見掛けの沃度消費量が少くなることを認め、除蛋白剤にメタ磷酸を用うればこの第二鉄の影響を除外し得る事を明らかにした。次にアスコルビン酸が沃度消費量に関与している事は Boyland⁴⁵⁾ 小川⁴⁶⁾等も之を認めその補生に腐心しているが、最近に至り藤田・沼田⁴³⁾はアスコルビン酸々化酵素を応用する事によつて直接還元「グ」値を得る方法を發表した。次に酸化型の測定に就いては従

来 Zn Mg, Cyanide 等を用いて酸化型を還元型に変化せしめる方法があつたが、藤田・沼田⁴⁷⁾はこれらの方法を吟味してその何れもが未だ完全なる定量法となり得ない所以を示し、新に流化水素を通じて酸化「グ」を定量的に還元する方法を發表した。

次に「グ」の比色法としては Nitroprusside 反応によるものが最も特異的であり、この方法には Tunicluffe³⁵⁾ (1925年)、Thompson⁴⁸⁾ (1929年)、藤田・岩竹⁴⁴⁾ (1934年)、藤田・沼田⁴⁹⁾ (1938年)等の記載があるが何れも呈色が不安定で正確な実測値の得られない懼れがある。

著者は諸家の方法を吟味改良した藤田・沼田氏沃度法による「グ」の微量定量法其一⁴³⁾、其二⁴⁷⁾を応用して酸化還元両型に恒り測定した。

次にその大要を記す。

2 g 以内 (a g) の被験組織片を 0.01 g 迄正確に秤量し、之を少量の精製海砂と共に小型の陶製乳鉢中に投じ 4 a cc の 5% HPO₃ を加えて十分に磨碎する。更に 5 a cc の水を加えて混和し、大型遠心沈澱管に移して約 15 分間遠沈後、上清を濾過して濾液 F を得る。(血液の場合は 5 a cc の水に血液 a cc を加えて溶血せしめ以下同様に処置する) この濾液 (1:10) 2.0 cc 宛を 2 本の試験管にとり、1 本にて定量の Methylrot を加え 2n NaOH にて pH 6~7 となる (橙色より黄色になる最初の点、通常 0.08 cc~0.14 cc) NaOH 量を求め、他の 1 本の試験管に求め得た所要の NaOH を加え更にアスコルビン酸オキシダーゼ 0.05 cc (藤田・坂本氏法⁵⁰⁾による) を加え 30°C 水浴中にて O₂ を通ずること 5 分間にて取出し、加えた 2n NaOH 量に均しい 2n HCl を加え直ちに氷水中に入れる。次に新鮮 4 g/dl 沃度加里液 0.2 cc 及び 1 g/dl 澱粉液 1 滴を加え、0°C に冷却するのをまつてミクロビレットに盛つた n/1000 沃度加里液を以て持続性に青色の発現する迄滴定し消費量を讀む。更に盲検値を測定し補生した消費量を a cc とすれば沃度消費量を総て還元「グ」によるものとして計算した時の被験組織中の還元「グ」量 X は

$$Xmg \% = 3.07 \times \frac{av}{m}$$

a : 沃度消費 (盲検補正) m : 可検液量

v : 稀釈倍数

次に総「グ」の定量には前記の濾液 F 5.0cc を試験管にとり 2 g/dl 錯酸第二水銀液 2.0cc, n/2 塩酸 2.0cc 25 g/dl 錯酸曹達液 1.0cc を順次に加え、その都度よく混和する。次いで硫化水素瓦斯を通すこと 10分~15分にして十分に飽和し密栓して越夜放置する。次に之を濾過し 8.0cc に劃線のある試験管に濾液 8.0cc を採り 2nHCl 0.3cc を添加し短いガラス管を備えたゴム栓を以て管壁を軽く叩きつゝ水流ポンプで 10分間減圧吸引し、冷却せる液を室温まで温め、減少せる液面を劃線まで補う。この液 (Q) 2cc を採りこれに 2nNaOH 0.24cc 及び アスコルビン酸オキシダーゼ 0.05cc を加え 30°C 水浴中に 5分間 O₂ を毛細管より通じたる後、2nHCl 0.24cc を加えて氷水中に浸す。これに新鮮 4 g/dl 沃度加里液 0.2cc 及び 1 g/dl 澱粉液 1 滴を加え 0°C 迄冷却する。ミクロピュレットより n/1000 沃度酸加里液を持続性の青色の発現する迄滴下しその消費量をよむ。別に盲検を行い補正した消費量を a cc とすれば沃度消費量は総て

「グ」によるものとした時の総「グ」量は

$$Xmg \% = 30.7 \times \frac{av}{m} \text{ となる。}$$

m : 可検液量 (上式では 2 cc) v : 稀釈倍数 (上式では 20)

第二章 健常家兎に於ける実験

数日間一定飼料で飼育せる体重 2.5kg 前後の家兎に就いて、肝臓、筋肉及び血液中の「グ」を酸化、還元両型共に測定した。而して村田⁷⁴⁾、Gajatto⁷⁵⁾ 等によれば諸臓器組織の「グ」量は季節的な消長があると云われ、又細菌感染、飼育管理の難易等をも考慮して実験は総て夏期を避けて行つた。

(1) 実験成績

(i) 肝臓「グ」: 健常家兎 10例の還元「グ」、酸化「グ」、総「グ」及び総「グ」に対する還元「グ」の比率は第 1 表に表示する通りである。

(ii) 筋肉「グ」: 10例の還元「グ」、酸化「グ」、総「グ」及び総「グ」に対する還元「グ」の還元型の比率は第 2 表に表示する通りである。

(iii) 血液「グ」: 10例の還元「グ」、酸化「グ」、総「グ」及び総「グ」に対する還元「グ」の比率は第 3 表に表示する通りである。

第 1 表 肝臓グルタチオン (健常家兎)

家兎番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
還元グ	mg%	307.0	331.5	297.7	377.3	318.3	308.5	322.3	331.5	300.8	270.1
酸化グ	mg%	61.4	42.9	39.9	12.5	52.1	38.3	49.1	55.2	27.6	6.4
総グ	mg%	368.4	374.4	337.7	389.8	368.4	346.9	371.4	386.8	328.4	276.3
還元型化	%	83.5	81.3	88.1	96.7	88.5	88.9	86.7	85.6	91.5	97.8

第 2 表 筋肉グルタチオン (健常家兎)

家兎番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
還元グ	mg%	35.9	33.7	32.2	36.8	38.3	33.7	32.2	30.7	41.4	38.3
酸化グ	mg%	28.5	32.5	29.5	40.5	26.1	38.0	41.4	35.6	37.7	40.8
総グ	mg%	64.4	66.3	61.7	77.3	64.4	71.8	73.6	66.3	79.2	79.1
還元型化	%	55.7	50.9	52.1	47.6	59.5	47.0	43.7	46.2	52.3	48.4

第3表 血液グルタチオン (健康家兎)

家兎番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
還元グ	mg%	35.3	36.0	31.4	35.3	33.0	30.7	29.1	52.2	30.7	36.8
酸化グ	mg%	47.5	25.3	37.6	39.9	37.6	30.7	44.5	33.3	49.1	39.9
総グ	mg%	82.8	61.4	69.0	75.2	70.6	61.4	73.6	70.6	79.8	76.7
還元型化	%	42.5	58.7	45.5	46.9	46.7	50.0	39.5	45.6	38.5	48.0

第4表 健康家兎「グ」平均値 (10例)

	還元グ mg%	酸化グ mg%	総グ mg%	還元型比
肝臓グ	316.3	38.5	354.8	89.1%
筋肉グ	35.3	35.0	70.3	50.2%
血液グ	33.0	39.0	72.1	45.8%

(2) 小括並びに考按

上記健康家兎10例の肝臓「グ」、筋肉「グ」及び血液「グ」の平均値は第4表に表示する通りである。

(i) 肝臓「グ」: 10例の平均値にて還元「グ」は316.3mg%, 酸化「グ」は38.5mg%, 総「グ」354.8mg%, 還元型比率89.1%であり、殆どが還元「グ」で占められている。肝臓「グ」に就いて先進諸家の値を見るに Tunicluffe³⁵⁾ 0.24%, Vorela, Duonarcou, Munilla⁵¹⁾ 0.344%, 佐藤⁵²⁾ 0.258%, 松森・奥田⁵³⁾ 0.262%, 原田・日下・三谷⁵⁴⁾ 0.283%, 大島⁵⁵⁾ 0.241%, 中井⁵⁶⁾ 0.325%, 藤井⁵⁷⁾ 0.269%, 西広⁵⁸⁾ 0.337%, 村田⁵⁹⁾ 0.259%, 川那部⁶⁰⁾ 0.573%, 川越⁶¹⁾ 0.375%, 伊崎⁶²⁾ 0.237%, 脇阪⁶³⁾ 0.323%, Uyei⁶⁴⁾ 0.33%, 山田・伊藤⁶⁵⁾ 0.408%等がある。著者の得た還元「グ」値は0.316%で中井, 西広, 脇阪, Uyei 等の値と略々一致した。酸化「グ」に就いての報告は甚だ少いが伊崎⁶²⁾ 8.3mg%, 脇阪⁶³⁾ 15.6mg%, 山田・伊藤⁶⁵⁾ 47.23mg%等がある。

(ii) 筋肉「グ」: 正常家兎10例の平均値は還元「グ」35.36mg%, 酸化「グ」33.12mg%, 総「グ」68.48mg%で総「グ」に対する還元「グ」の比率は50.2%である。筋肉「グ」を測定した先人の成績を見るに稲田・中井⁶⁶⁾の還元「グ」62mg

%, 山田・伊藤⁶⁵⁾の還元「グ」51.49mg%, 酸化「グ」23.45mg% 総「グ」74.94mg%等がある。

(iii) 血液「グ」: 正常家兎10例の平均値は還元「グ」33.07mg%, 酸化「グ」39.08mg%, 総「グ」72.14mg%で総「グ」に対する還元「グ」の比率は45.8%である。肝臓「グ」が殆ど還元型で占められるに反し血液「グ」は寧ろ酸化型の方が多し。而して血液「グ」を測定した先人の成績を見るに還元「グ」では神谷⁶⁷⁾, 28.0mg%, 松森・奥田⁵³⁾, 32.0mg%, 原田・日下・三谷⁵⁴⁾, 29.0mg%, 村田⁵⁹⁾, 23.0mg%, 浅山⁶⁸⁾, 28.7mg%, 下方⁶⁹⁾, 34.54mg%, 脇阪⁶³⁾, 20.94mg%, 山田・伊藤⁶⁵⁾, 53.1mg%等がある。酸化「グ」では浅山⁶⁸⁾, 10.3mg%, 細井⁷⁰⁾ 10.7mg%, 下方⁶⁹⁾ 20.69mg%, 山田・伊藤⁶⁵⁾, 20.9mg%, 脇阪⁶³⁾, 36.77mg%等がある。之等先人諸家の値と著者の得た値と較べ還元「グ」では松森, 原田, 下方等の値と略々等しく酸化「グ」では脇阪の値と略々一致した。

(3) 再度開腹による影響に就いて

諸臓器組織の「グ」含有量に関しては食餌⁷⁶⁾, 季節⁷⁷⁾⁷⁸⁾等の影響をうけ、又個体差によつても差異が認められるが、各個体に於ける肝臓, 筋肉及び血液中の「グ」量は Fischback⁷¹⁾, Mann⁷²⁾ 平野等⁷³⁾の報告にも見られる如く肝臓片約2.0g切除後10日目に再度開腹して検した所、総ての変化は5%以内の動盪にとゞまる事を確認した。依つて以後の実験に於てはX線照射前後の値を比較し5%以内の変動は生理的動盪範囲と見做し、5%~10%までは(±), 10%以上の変動を有意の変化と見做し実験を進めた。

引用文献は第3報末尾に一括記載する。